

Síndrome Demencial Secundário a Malabsorção de Vitamina B12

Relato de um Caso Clínico

**Trabalho Final do Mestrado Integrado em Medicina
Ano Letivo 2015/2016**

Clínica Universitária de Medicina I

Orientador: Doutor Paulo Cantiga Duarte

João Paulo Barbosa Delgado (12795)

ABSTRACT

The diversity in clinical presentations and etiologies can turn the diagnosis of dementia into a challenge. There is a known link between dementia and dysfunctions of vitamin B12 metabolism. The author presents the case of a 58 year old caucasian woman with a previous, but unconfirmed, diagnosis of pernicious anaemia, under irregular vitamin B12 supplementation, admitted to the hospital with complaints of cognitive deficit, ataxia and paresthesia of the lower limbs which had been progressing for 1 year prior to admission, associated with a consumptive syndrome which started 3 months before admission. Workup performed during her stay showed no evidence of anaemia or anti-parietal cell antibodies; infection and cancer of the central nervous system or others were also excluded. The results of the electrophysiologic study were compatible with a peripheral nerve demyelinating motor-sensitive polyneuropathy. Magnetic resonance imaging of the central nervous system revealed frontal and bitemporal atrophy, with no evidence of demyelinating, vascular or space-occupying lesions. In spite of B12 intake and serum levels within normal reference values, insufficient reposition was demonstrated by measurement of high levels of methylmalonic acid. Thus, this is a case of dementia caused by vitamin B12 deficiency, which progressed in spite of normal serum levels of this vitamin.

RESUMO

A diversidade de etiologias e as múltiplas formas de apresentação clínica podem tornar o diagnóstico de demência num desafio. É conhecida a associação entre esta e perturbações no metabolismo da vitamina B12. Apresenta-se o caso de uma mulher caucasiana de 58 anos com diagnóstico prévio, mas não confirmado, de anemia perniciosa, sob reposição irregular de vitamina B12, que foi internada por défice cognitivo, desequilíbrio na marcha e parestesias nos membros inferiores de agravamento progressivo com 1 ano de evolução, a que se associou síndrome consumptiva com 3 meses de evolução. Em internamento não se verificou a anemia nem a presença de anticorpos anti-células parietais e foi excluída infeção ou neoplasia do sistema nervoso central ou outro. O estudo eletrofisiológico era compatível com polineuropatia sensitivo-motora desmielinizante a nível periférico. A ressonância magnética crânio-encefálica e medular revelou atrofia frontal e bitemporal, sem lesões desmielinizantes, vasculares ou ocupantes de espaço. Apesar da toma de vitamina B12 e

de os níveis séricos da mesma se situarem dentro dos valores de referência, foi demonstrada uma reposição insuficiente através do doseamento de nível elevado de ácido metilmalónico. Trata-se então de um caso de demência precoce secundária a perturbação no metabolismo de B12 por défice de reposição, apesar de ter níveis séricos normalizados.

INTRODUÇÃO

A síndrome demencial é caracterizada por um conjunto de alterações na memória e em outras funções cognitivas e emocionais suficientemente severas para interferir com a vida normal da pessoa.

A demência é atualmente uma situação clínica comum entre as pessoas idosas, com uma prevalência de cerca de 1% aos 60 anos, que duplica a cada cinco anos até atingir 30 a 50% aos 85 anos (Geldmacher & Whitehouse, 1996). Em Portugal, as estimativas mais recentes apontam para uma prevalência de 5,91% da população com idade superior a 60 anos, sendo mais de 64% desse grupo constituído por pessoas com mais de 80 anos de idade (Santana, Farinha, Freitas, Rodrigues, & Carvalho, 2015).

Existem mais de 55 doenças que podem causar um quadro demencial, pelo que é necessária uma avaliação extensa e cuidadosa para chegar a um diagnóstico correto. A avaliação de uma síndrome demencial deve começar pela colheita de uma história clínica detalhada (idealmente com o apoio de pessoas próximas do doente), de forma a estabelecer o tipo e a gravidade das alterações cognitivas, a sua evolução temporal, sintomas ou antecedentes que apontem para uma causa médica, neurológica ou psiquiátrica de base e uso de fármacos ou drogas de abuso que possam interferir com as funções cognitivas. Uma disfunção cognitiva pode ser rastreada através de testes padronizados, como o Mini-Mental State Examination (MMSE), podendo ser suplementada com outros testes neuropsicológicos mais extensos. A avaliação laboratorial recomendada (segundo a Academia Americana de Neurologia) inclui hemograma, parâmetros bioquímicos, função tiroideia, medição dos níveis de vitamina B12 e rastreio de doenças inflamatórias e infecciosas. Além disso, a presença de lesões estruturais no cérebro pode ser avaliada através da tomografia computadorizada (CT) ou da ressonância magnética (RM), sendo a RM preferível à TC em situações com disfunção motora associada, por ser superior na deteção de lesões vasculares. Quando esta avaliação inicial se revela inconclusiva, um eletroencefalograma (EEG) pode ajudar

ao diagnóstico de causas tóxicas ou metabólicas, atividade epilética subclínica ou doença priónica em casos de demência rapidamente progressiva. Em casos atípicos de demência (por exemplo, em idades muito jovens ou em doentes com sinais de doença sistémica), pode-se ponderar a realização de uma punção lombar (Geldmacher & Whitehouse, 1996).

Entre as diversas etiologias de demência conhecidas estão as alterações no metabolismo da vitamina B12. O caso aqui apresentado envolve uma síndrome demencial numa idade precoce, secundária a uma perturbação no metabolismo de B12 que persistiu apesar de esta se encontrar em níveis séricos normais na altura do diagnóstico.

CASO CLÍNICO

Uma mulher de 58 anos, independente nas atividades de vida diária, foi trazida pelo marido ao Serviço de Urgência (SU) do Hospital de Santa Maria em Dezembro de 2015, apresentando um quadro clínico de perda ponderal significativa (cerca de 30 kg, mais de 10% da sua massa corporal), com 3 meses de evolução, em contexto de anorexia não seletiva, acompanhada de vómitos de conteúdo alimentar e dejeções diarreicas. Na semana anterior ao internamento, iniciou queixas de tonturas e “falta de força para a marcha autónoma” (sic) com quedas, sem perda de consciência, que cediam com o decúbito, acompanhadas de mialgias e artralguas generalizadas. Negava febre ou outros sintomas do foro gastrointestinal ou génito-urinário.

A doente era seguida em consulta de Neurologia desde Abril de 2013 para estudo de défice cognitivo aparentemente ligeiro (com alterações do comportamento e memória notadas pelo marido), sem etiologia definida à data do internamento. Além desta situação, a doente apresentava diagnósticos prévios de anemia perniciosa, hipotireoidismo autoimune, psoríase e síndrome depressiva, mas sem registos laboratoriais disponíveis para confirmar os mesmos. Tinha antecedentes de hepatite tóxica iatrogénica (secundária à toma de antidepressivos). Estava a cumprir terapêutica com suplementos orais de cianocobalamina e ferro (cuja toma era irregular), levotiroxina, paroxetina e triazolam. Não tinha alergias alimentares ou medicamentosas conhecidas. Era ex-fumadora (45 UMA). Não tinha antecedentes familiares de relevo.

À chegada ao SU, a doente encontrava-se eupneica em ar ambiente, apirética (TT 36.7° C) e hemodinamicamente estável mas taquicárdica (TA 112/76 mmHg, FC 118 bpm),

com mucosas descoradas e hidratadas e lesões brancas dispersas na mucosa jugal e na língua (interpretadas como sinais de estomatite fúngica). A auscultação cardíaca e pulmonar não revelaram alterações. O abdômen encontrava-se globoso, timpanizado, mole e depressível, doloroso à palpação profunda dos quadrantes superiores, sem sinais de irritação peritoneal, sem massas ou organomegalias palpáveis.

À observação por Neurologia, a doente encontrava-se vigil e orientada, mas com dificuldades em contar o motivo de vinda ao SU e os seus antecedentes médicos. Verificou-se um defeito na memória a curto prazo, com um erro na evocação diferida de 3 palavras no MMSE (recuperando com pista semântica). Também apresentava erros propriocetivos nos dedos dos pés e hipoparestesia distal dos membros inferiores (sem alterações nos membros superiores), dismetria ligeira na prova dos braços estendidos com os olhos fechados e decomposição terminal na mesma prova com olhos abertos e fechados, marcha atáxica, Romberg positivo sem latência e sem lado preferencial e reflexos osteotendinosos rotulianos diminuídos.

A avaliação laboratorial demonstrou ausência de alterações no hemograma, presença de hipocaliémia (K^+ 3.0mmol/L) e proteína C-reativa (PCR) elevada (8.6 mg/dL); uma análise sumária de urina que revelou proteinúria nefrítica, leucocitúria e presença de nitritos; um eletrocardiograma (ECG) com taquicardia sinusal; e uma radiografia torácica que excluiu lesões pleuroparenquimatosas.

A doente foi então internada para investigação do quadro neurológico e consumptivo, colocando-se as hipóteses diagnósticas de défice cognitivo, disfunção dos cordões medulares posteriores de etiologia a esclarecer e infeção do trato urinário adquirida na comunidade, motivo pelo qual iniciou antibioterapia empírica com cefuroxima, sendo posteriormente isolada *E.coli* sensível à mesma em urocultura.

Durante o internamento, a doente manteve-se hemodinamicamente estável, eupneica e apirética. Embora vigil e colaborante, verificou-se um estado de adinamia alternado com períodos de confusão e agitação psicomotora, bem como desorientação no tempo e no espaço.

Ao terceiro dia de internamento, a doente foi reavaliada por Neurologia – estava vigil e orientada, conseguia nomear objetos e repetir palavras, cumpria ordens simples e complexas, apresentava acalculia, perda de instrução, défice de evocação (evocava 3 em

3 palavras de imediato mas 1 em 3 após interferência), não tinha alterações nos pares cranianos à exceção de uma discreta decomposição sacádica na perseguição, apresentava defeito na sensibilidade álgica dos membros inferiores até aos joelhos e erros na sensibilidade propriocetiva dos mesmos, marcada ataxia da marcha e nas provas de coordenação dos MI, Romberg positivo com marcada instabilidade e marcha impossível com olhos fechados. Foi também observada por Psiquiatria, que também verificou acalculia, défice de evocação, parafasias e défice de planeamento, corroborando o diagnóstico de défice cognitivo ligeiro a moderado de etiologia secundária.

Realizaram-se novos exames complementares de diagnóstico, cujos resultados excluíram anemia ou macrocitose, presença de anticorpos anti-células parietais, elevação dos anticorpos anti-tiroideus, lúpus e outras doenças autoimunes, infeção por VIH, hepatite B e C, herpesvirus 1 e 2, fungos, micobactérias (IGRA negativo), sífilis e brucelose, com níveis séricos de vitamina B12 dentro dos valores de referência (775 pg/mL). Foi realizada uma punção lombar, que revelou aumento ligeiro da adenosina desaminase (ADA), aumento da razão IgG soro/LCR e aumento da albumina do LCR, sugestivos de processo inflamatório meníngeo e aumento da permeabilidade da barreira hemato-encefálica. Procedeu-se também à realização de um EEG, que mostrou um padrão de atividade de base lenta e atividade lenta fronto-temporal, temporal posterior e parietal bilateral independente, e de um electromiograma (EMG) que identificou alterações na velocidade de condução média dos nervos mediano esquerdo, cubital direito, ciático popliteu externo esquerdo e tibial posterior direito e alterações no potencial sensitivo do nervo mediano e radial esquerdo, do nervo cubital direito, do nervo ciático popliteu externo esquerdo e do nervo safeno externo direito, sugestivas de polineuropatia sensitivo-motora moderada, de predomínio desmielinizante.

Durante o internamento, foi também pedida uma ressonância magnética cranio-encefálica e medular, que a doente recusou por claustrofobia; esta RM acabou por ser realizada 3 semanas após a alta, revelando sinais de atrofia de predomínio fronto-temporal, insular e temporo-mesial bilateralmente, mas sem quaisquer lesões de natureza vascular ou expansiva, nem padrões sugestivos de lesão desmielinizante (ver Figura 1). Após a realização desta RM, foi pedido um doseamento de ácido metilmalónico, cujo resultado se revelou superior aos valores de referência (2.01 mmol/L, VR 0.08-0.56 mmol/L).

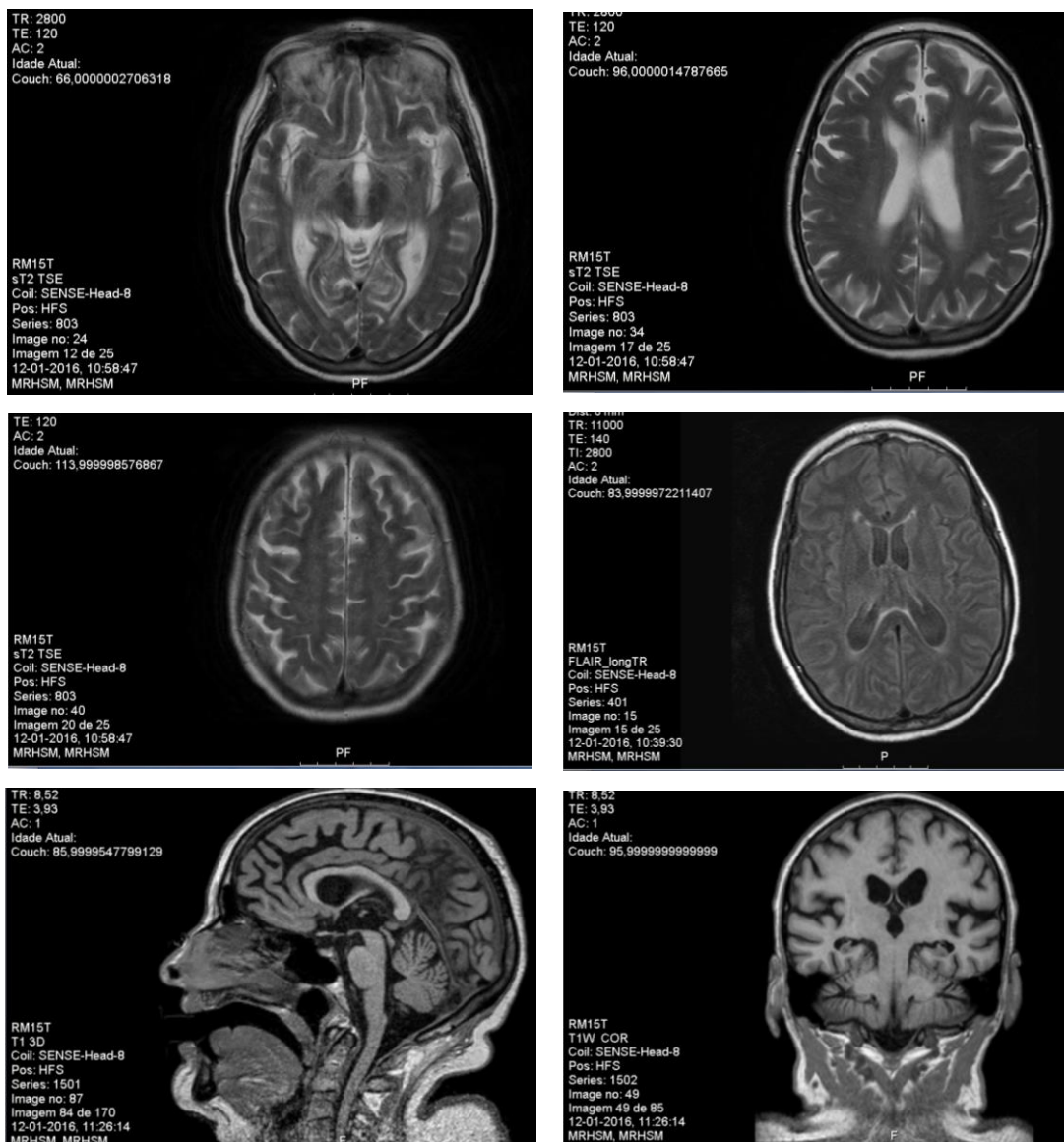


Figura 1. Imagens da RM realizada após alta da doente.

DISCUSSÃO

Esta doente apresenta um quadro de défice cognitivo grave, que compromete a sua autonomia e a sua vida social. O início insidioso e a progressão lenta deste quadro são fatores que ajudam a diferenciar esta situação de um *delirium*; o facto de a doente já se encontrar sob terapêutica antidepressiva antes do internamento ajuda a excluir a depressão como causa provável. Considerando todas estas características, é possível atribuir a este caso o diagnóstico de uma síndrome demencial.

Relativamente à etiologia desta síndrome, as observações e os exames realizados permitiram a exclusão de doenças infecciosas, neoplasias, doenças cardiovasculares e auto-imunes. A associação de sintomas neuropsiquiátricos e mielopáticos, os níveis aumentados de ácido metilmalónico e a presença de alterações eletrofisiológicas sugestivas de desmielinização periférica apontam para uma perturbação do metabolismo da vitamina B12 como etiologia mais provável, apesar dos níveis séricos de B12 se encontrarem dentro dos valores de referência à data do internamento. O quadro clínico é globalmente compatível (apesar de ainda não ter sinais imagiológicos de desmielinização central) e explica o surgimento de défice cognitivo e progressão para demência de forma precoce, dado a doente ter feito reposição de forma irregular de cianocobalamina por duração indeterminada.

No ser humano, a vitamina B12 é cofator de duas enzimas: a metionina sintase e a metilmalonilcoenzimaA (MMCoA) mutase. A metionina sintase converte em simultâneo o 5-metiltetrahydrofolato (THF) em THF e a homocisteína em metionina, permitindo o uso posterior do THF na síntese de ácidos nucleicos e da metionina em diversas reações de metilação, incluindo as reações necessárias para a síntese de mielina. A MMCoA mutase converte a MMCoA (um derivado do ácido propiónico sintetizado pela flora intestinal e usado na síntese de ácidos gordos) em succinilCoA, um precursor necessário à síntese do heme (Solomon, 2007).

Assim, uma situação de insuficiência de vitamina B12 compromete a eritropoiese, o metabolismo dos ácidos nucleicos e a mielinização da substância branca e dos nervos periféricos. As principais manifestações clínicas deste défice incluem a anemia megaloblástica (que, apesar de ser a apresentação mais comum, não estava presente nesta doente) e diversas manifestações neurológicas, desde parestesias e alterações da

marcha até um quadro mais grave de degeneração subaguda combinada, que inclui disfunção neuropsiquiátrica.

A revisão de uma série de casos realizada em dois centros hospitalares de Nova Iorque e publicada em 1988 revelou que as alterações neurológicas provocadas pelo défice de B12 podem ocorrer na ausência de disfunção hematológica – os autores admitiram até a hipótese de existir uma relação inversa entre a gravidade da disfunção neurológica e a da anemia (Healton, Savage, Brust, Garrett, & Lindenbaum, 1991; Lindenbaum et al., 1988). O mecanismo fisiopatológico por trás desta relação ainda não foi completamente esclarecido – as hipóteses propostas incluem uma disfunção nas enzimas metabolizadoras de B12, a inibição dessas enzimas pela acumulação de análogos de B12 (hipóteses que não foram confirmadas pelas observações em modelos animais e em humanos), a intervenção de citocinas e fatores de crescimento como o TNF-alfa (cujos níveis séricos se revelaram aumentados em modelos animais e em humanos com défice de B12) e a interleucina-6 (que se revelou reduzida nestes modelos experimentais) e a combinação do défice de B12 com níveis de ácido fólico normais ou aumentados (Solomon, 2007), na medida em que os folatos permitem a manutenção da síntese de ácidos nucleicos (prevenindo assim a anemia), mas a sua acumulação inibe uma das enzimas que participam no ciclo da metionina, a glicina N-metiltransferase (Carmel, Melnyk, & James, 2003).

Para além do efeito direto do défice da vitamina B12, pensa-se que a acumulação de homocisteína que ocorre com as interferências no ciclo da metionina também contribui para a disfunção neurológica central e periférica, através da inibição competitiva dos recetores GABA-A/B e do aumento do stress oxidativo, que em conjunto promovem a ativação de metaloproteinases na matriz endotelial que desencadeiam uma disrupção da barreira hematoencefálica (Tyagi, Lominadze, & Roberts, 2005), o que pode explicar as alterações de carácter inflamatório na punção lombar desta doente. De facto, há estudos que demonstram que a elevação da homocisteína sérica é um fator de risco independente para o declínio cognitivo em idosos saudáveis e com doença de Alzheimer e que a administração de folatos com vitaminas do complexo B reduz os níveis de homocisteína e tem um efeito protetor em relação à progressão do défice (Ansari, Mahta, Mallack, & Luo, 2014). Esta administração conjunta revela-se crucial para evitar as consequências de um desequilíbrio entre os níveis séricos de B12 e folatos, acima referidas.

O caso relatado destaca-se pela idade precoce de apresentação do quadro demencial e pela presença de um quadro clínico neurológico típico de um déficit de vitamina B12, com alterações cognitivas e mielopáticas, que progrediu numa doente que já estava a tomar suplementos de B12, mas que tinha um valor de ácido metilmalónico superior ao normal.

A resposta para esta aparente contradição reside nas limitações dos métodos atuais de diagnóstico e tratamento da deficiência de vitamina B12. Na prática clínica corrente, o doseamento sérico da vitamina B12 é o método vulgarmente usado para confirmar a existência de um déficit de B12 na presença de suspeita clínica. Este teste tem uma boa sensibilidade para este efeito (65 a 95%), mas é necessário ter em conta que apenas 20% da vitamina B12 em circulação se encontra numa forma metabolicamente ativa, por estar ligada à transcobalamina; os restantes 80% circulam ligados à haptocorrina, que não realiza transporte para os tecidos (Stabler, 2013). Assim, quaisquer condições que alterem a quantidade ou a função destas proteínas de transporte podem resultar em valores séricos de B12 falsamente elevados ou diminuídos (Solomon, 2007) – um exemplo prático que já foi alvo de estudo é a glicosilação da haptocorrina, que reduz consideravelmente a sensibilidade de ensaios de imunofluorescência realizados em amostras não tratadas (Morkbak, Pedersen, & Nexø, 2005). Para além disso, a proliferação de métodos de medição automatizados com recurso à quimioluminescência introduziu novas dificuldades na medição de amostras que contenham anticorpos anti-fator intrínseco - uma vez que o fator intrínseco é a proteína de ligação usada nestes métodos, o doseamento pode revelar valores normais ou falsamente elevados em doentes com anemia perniciosa, a não ser que estes anticorpos sejam retirados da amostra antes do teste (Stabler, 2013).

Assim, um método mais seguro de confirmar o déficit de B12 passa pela medição adicional dos níveis de ácido metilmalónico ou de homocisteína, uma vez que estes produtos se acumulam se não forem utilizados nas reações dependentes da B12. Em situações de deficiência clínica de B12, mesmo quando só existem manifestações neurológicas (ou seja, sem anemia), os níveis de ácido metilmalónico e de homocisteína estão elevados em mais de 98% dos casos. Estes testes também podem ser usados após iniciar terapêutica com suplementos de B12, para determinar se há uma resposta adequada (os níveis de ácido metilmalónico e homocisteína começam a descer imediatamente após o início do tratamento) (Stabler, 2013).

Quando uma deficiência de B12 mantém progressão clínica apesar de existir um aporte adequado, podemos afirmar que existe um defeito na absorção. Infelizmente, o método mais fiável existente para avaliar diretamente a absorção de B12, o teste de Schilling, é raramente utilizado devido aos custos e limitações envolvidos na sua realização – este teste envolve a ingestão de vitamina B12 radiomarcada após uma noite de jejum, uma injeção intramuscular de B12 para saturar os recetores hepáticos e impedir que estes recolham a B12 radioativa que for absorvida pelo tubo digestivo, uma colheita de urina de 24 horas para avaliar a excreção urinária da B12 radioativa (o que implica que a pessoa em estudo tem de ter uma função renal normal), e a repetição de todo este processo com uma dose de fator intrínseco se for detetado um resultado anormal (Carmel, 2007). Outra limitação importante deste teste é que ele só avalia a absorção da vitamina B12 na sua forma livre - para avaliar a absorção da vitamina B12 ligada a proteínas (como acontece nos alimentos que a contêm), a B12 radiomarcada pode ser ingerida numa mistura com gema de ovo (Karnaze & Carmel, 1990).

Para colmatar esta lacuna, está a ser estudado um teste alternativo baseado na medição da saturação da holotranscobalamina em resposta a doses fixas de B12 oral (Stabler, 2013), mas este teste ainda não é usado na prática clínica e só em Janeiro de 2016 se conseguiram estabelecer valores de referência internacionais para este complexo (Thorpe et al., 2016). Na falta de meios para avaliar a capacidade de absorção da B12, não é possível definir com clareza a etiologia da deficiência, pois além da má absorção, esta pode dever-se a uma dieta pobre em B12, a uma alteração metabólica hereditária ou adquirida ou a uma causa iatrogénica ou idiopática (Carmel, 2007).

Em todas estas situações, o tratamento passa pela reposição de B12. Geralmente, preconiza-se o uso de injeções intramusculares de vitamina B12 para o tratamento de situações de défice clínico – por exemplo, no caso da anemia perniciosa, recomenda-se uma injeção de 1000 µg todos os dias ou em dias alternados durante uma semana, depois uma vez por semana durante 4 a 8 semanas e a partir daí 1 vez por mês para o resto da vida (Stabler, 2013). A via intramuscular tem a vantagem de não depender da capacidade de absorção gastrointestinal da vitamina B12; contudo, alguns estudos sugerem que a administração diária de altas doses de B12 por via oral é igualmente eficaz, podendo ser mais cómoda para os doentes e implicando menos despesas com injeções (Ontario, 2013; Shipton & Thachil, 2015). Em qualquer dos casos, é importante garantir que os doentes cumprem a terapêutica – quando a suplementação é

interrompida após melhoria clínica, os sintomas neurológicos regressam num período de pelo menos 6 meses (Stabler, 2013).

Em suma, o caso desta doente demonstra que perante uma situação de défice cognitivo ou de demência, é importante colher uma história clínica detalhada (com especial atenção à deteção precoce de causas potencialmente reversíveis), considerar as limitações dos métodos complementares de diagnóstico utilizados e manter um seguimento adequado após iniciar a terapêutica.

AGRADECIMENTOS

O autor gostaria de agradecer ao Dr. Paulo Cantiga Duarte e aos internos Milton Camacho e Inês da Fonseca, do serviço de Medicina I B do HSM, cujo apoio e disponibilidade foram indispensáveis para a realização deste trabalho. O autor agradece também ao Dr. Pedro Alves, do Serviço de Neurologia do HSM, pela sua colaboração na resolução do caso aqui retratado.

BIBLIOGRAFIA

- Ansari, R., Mahta, A., Mallack, E., & Luo, J. J. (2014). Hyperhomocysteinemia and neurologic disorders: a review. *Journal of Clinical Neurology (Seoul, Korea)*, 10(4), 281–288. <http://doi.org/10.3988/jcn.2014.10.4.281>
- Carmel, R. (2007). The disappearance of cobalamin absorption testing: a critical diagnostic loss. *The Journal of Nutrition*, 137(11), 2481–4.
- Carmel, R., Melnyk, S., & James, S. J. (2003). Cobalamin deficiency with and without neurologic abnormalities: Differences in homocysteine and methionine metabolism. *Blood*, 101(8), 3302–3308. <http://doi.org/10.1182/blood-2002-09-2746>
- Geldmacher, D. S., & Whitehouse, P. J. (1996). Evaluation of Dementia. *New England Journal of Medicine*, 335(5), 330–336.
- Healton, E. B., Savage, D. G., Brust, J. C. M., Garrett, T. J., & Lindenbaum, J. (1991). Neurologic Aspects of Cobalamin Deficiency. *Medicine*, 70(4), 229–245.
- Karnaze, D. S., & Carmel, R. (1990). Neurologic and evoked potential abnormalities in subtle cobalamin deficiency states, including deficiency without anemia and with normal absorption of free cobalamin. *Archives of Neurology*, 47(9), 1008–12. <http://doi.org/10.1001/archneur.1990.00530090082017>
- Lindenbaum, J., Healton, E. B., Savage, D. G., Brust, J. C. M., Garrett, T. J., Podell, E. R., ... Allen, R. H. (1988). Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the absence of anemia or macrocytosis. *New England Journal of Medicine*, 318(26), 1720–8.
- Morkbak, A. L., Pedersen, J. F., & Nexø, E. (2005). Glycosylation independent measurement of the cobalamin binding protein haptocorrin. *Clinica Chimica Acta*, 356(1-2), 184–190. <http://doi.org/10.1016/j.cccn.2005.01.013>
- Ontario, H. Q. (2013). Vitamin B12 and cognitive function: an evidence-based analysis. *Ontario Health Technology Assessment Series*, 13(23), 1–45.
- Santana, I., Farinha, F., Freitas, S., Rodrigues, V., & Carvalho, Á. (2015). The Epidemiology of Dementia and Alzheimer Disease in Portugal: Estimations of

Prevalence and Treatment-Costs. *Acta Médica Portuguesa*, 28(2), 182–188.

Shipton, M. J., & Thachil, J. (2015). Vitamin B12 deficiency - A 21st century perspective . *Clinical Medicine (London, England)*, 15(2), 145–150.
<http://doi.org/10.7861/clinmedicine.15-2-145>

Solomon, L. R. (2007). Disorders of cobalamin (Vitamin B12) metabolism: Emerging concepts in pathophysiology, diagnosis and treatment. *Blood Reviews*, 21(3), 113–130. <http://doi.org/10.1016/j.blre.2006.05.001>

Stabler, S. P. (2013). Vitamin B₁₂ Deficiency. *New England Journal of Medicine*, 368(2), 149–160. <http://doi.org/10.1056/NEJMcp1113996>

Thorpe, S. J., Rigsby, P., Roberts, G., Lee, A., Hamilton, M., & Craig, D. (2016). An International Standard for holotranscobalamin (holoTC): international collaborative study to assign a holoTC value to the International Standard for vitamin B12 and serum folate. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 0(0). <http://doi.org/10.1515/cclm-2015-1167>

Tyagi, S. C., Lominadze, D., & Roberts, A. M. (2005). Homocysteine in microvascular endothelial cell barrier permeability. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 43(1), 37–44. <http://doi.org/10.1385/CBB:43:1:037>